水中施肥に関する研究—I.

窒素源添加培養によるマクサの窒素成分の変化*

山 田 信 夫

(1961 年 9 月 7 日受理)

STUDIES ON THE MANURE FOR SEAWEED—I.

ON THE CHANGE OF NITROGENOUS COMPONENT OF *GELIDIUM*
AMANSII Lmx. CULTURED WITH DIFFERENT NITROGEN SOURCES

Nobuo YAMADA**

The manure effects of four N-compounds, NH_4NO_3 , NaNO_3 , NaNO_2 , and $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, for *Gelidium amansii* which was cultured in the sea water added various quantities of these compounds (2, 5, 10 ppm in N-content) were comparatively examined.

1. Maximum increases in the contents of total-N and protein-N were found in the plants cultured in the sea water containing 5 ppm as NH_4NO_3 -N. Now it is judged by the writer that NH_4NO_3 is the best as the manure of *Gelidium amansii*. The plants, however, were injured in the sea water containing more than 10 ppm as NH_4NO_3 -N.

2. Since some increases in two forms of nitrogen of the plants were found by the addition of NaNO_3 to culture sea water, this N-compound may be effective as the manure.

3. Since NaNO_2 was hardly absorbed into the plants or even if it was absorbed it did not reduce in the plants, it is not effective as the manure.

4. $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ gave some effect to the nitrogen contents, and the plants were injured in the sea water containing 10 ppm as $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ -N.

アサクサノリやフノリ¹¹⁾に対する水中施肥は古くから行なわれており、アサクサノリでは施肥に必要な肥料とそれらの量的関係を知るための研究²⁾⁻⁸⁾や、窒素代謝についての生化学的な研究^{9), 10)}が行なわれている。一方、比較的深い海域に生育するコンブへの施肥¹¹⁾とそれらについての基礎的研究^{12), 13)}や、テングサへの施肥¹⁴⁾も行なわれ、相当の効果のあつたことが報告されている。また伊豆半島の二、三のテングサ漁場でも数年前に施肥が行なわれたということを聞くが¹⁵⁾、施肥効果はたしかめられてはいないようである。現在でもテングサへの施肥は、テングサの増産に対する地元漁民の強い要望の1つになつているが、テングサの吸収する肥料などに関する基礎的研究は全く見られない。

著者はテングサへの施肥を行なうにあたり、まずどのような肥料、とくに窒素肥料をどのくらいの量与えたら良いかを知るため、数種類の窒素源をそれぞれ添加した海水中にテングサを浸漬培養し、そのときのテングサの窒素成分の変化を調べた。

本文に入るに先立ち、終始御指導をいただき、御校閲をいただいた東海区水産研究所須藤俊造博士に衷心より感謝する。なお、この研究の発表の機会を与えられた静岡県水産試験場安藤精治場長、同五十嵐正治伊豆分場長、この研究に協力された伊豆分場職員に深く感謝する。

実 験 の 部

試料と実験方法

試料として用いたマクサ (*Gelidium amansii* Lmx.) は、1960 年 1 月 18 日静岡県下田町白浜地先の水

* 静岡県水産試験場伊豆分場業績

** 静岡県水産試験場伊豆分場 (Izu Branch, Shizuoka Pref. Fish. Exper. St., Shimoda).

深約 10m のところで、マンガ法によつて採取したもので、採取後直ちに海水を満した容器に入れて直射光線のあたらないようにして持ち帰り、採取後 1 時間以内に実験に供した。すなわち、この試料約 12~3g (約 2.5g のものを 5 株) を 8l 容のガラス水槽に汙過海水 7l と所定の量の窒素源 (N として 2, 5, 10 ppm) を加えたものに入れ、air-stone を用いて充分に通気した。試料は根本を糸でしばり、水面上に浮かないように小石を結びつけたが、通気によつて草体全体が静かにゆれ動く程度に空気を調節した。これらの水槽は直射光線のあたらないところにおき、さらに水温の変化を防ぐため水槽の周囲に海水を流した。実験中の水槽内の水温は 13.5~14.5°C であつた。1 日目と 3 日目、5 日目には試料を 1 株ずつ採取し、1 日目と 3 日目には海水を交換すると同時に窒素源を所定の濃度だけ添加した。採取試料は充分に蒸留水で水洗後、60°C で 3 時間乾燥、秤量したのち分析に供した。

窒素成分の定量方法

全窒素は micro-Kjeldahl 法により定量した。また蛋白態窒素は乾燥後細断した試料約 200mg を精秤して三角フラスコに入れ、蒸留水 50cc を加えて静かに 20 分間沸騰させたのち 10% 三塩化醋酸 10cc を加え、さらに 10 分間加熱、冷却後汙過して汙紙とともに micro-Kjeldahl 法により定量した。非蛋白態窒素量は全窒素量から蛋白態窒素量を差し引いて求めた。

実験結果と考察

まず sampling による誤差を検討するため、同じ日に、同じ場所から採取した 5 つの試料について、窒素成分を定量した。おのおのの試料は 1 株約 2.5g のもので、いずれも外観上同じようなものを用いた。

この結果を Table 1 に示した。この結果から、Sample 2 では全窒素量が 2.19% とやや他のものに比べて低い値を示しているが、全体的にみて sampling による誤差は比較的少ないということができよう。

次に 4 種類の異なつた形態の窒素源を添加したときに得られた窒素成分の変化を Table 2 に示した。これらの結果をおのおのの窒素形態についてみてみよう。

1) NH_4NO_3 区

いずれの窒素成分も対照区にくらべて増加している。すなわち、全窒素量の変化をみると、5 ppm では 3 日目で最高の値を示し、対照区に比べて約 30% の増加がみられた。5 日目ではやや減少するが、それでも 20% ほどの増加がみられた。蛋白態窒素量は、1 日目ではわずかに対照区に比べて増加しているに過ぎないが、3 日目、5 日目になると 20~40% の増加が認められた。添加した窒素濃度の変化に伴う窒素成分の変化をみると、全窒素、蛋白態窒素量の両者においては正の相関関係がみられ、5 ppm ではもつとも増加量が多くなっている。非蛋白態窒素量は添加濃度が増加するにしたがつて多くなっている。

このように NH_4NO_3 では、全窒素量ならびに蛋白態窒素量の増加が著しく大である。しかし 1 日目では 20% もの全窒素量の増加はあつても、わずかに 3~6% の蛋白態窒素量がみられただけで、ほとんどが非蛋白態窒素となつて表われ、1 日目から 3 日目にかけてはじめて著しい量の蛋白態窒素が増加している。

アサクサノリなどの海藻が NH_4^+-N を吸収したとき、グルタミン酸のごときアミノ酸を経て蛋白質に変わるものと考えられているが、同じ NH_4NO_3 を用いてアサクサノリで行なわれた実験結果⁹⁾ をみても、グルタミン酸の生成が尿素や NaNO_3 に比べて遅いことが知られているので、テングサの場合もアサクサノリと同じように代謝が比較的かんまんに行なわれているのではないかと考えられる。また添加量が 5 ppm のと

Table 1. The individual variation of nitrogenous components of *Gelidium amansii* in a collection from a natural bed.

Sample	Total-N %	Prot.-N %	Nonprot.-N %
1	2.38	1.55	0.83
2	2.19	1.50	0.69
3	2.41	1.51	0.90
4	2.33	1.55	0.78
5	2.39	1.55	0.84
Aver.	2.34	1.53	0.81

Table 2. The change of total-N, protein-N and nonprotein-N contents of *Gelidium amansii* cultured with different nitrogen sources during 5 days.

3)		1)		2)														
		Control	NH ₄ NO ₃			NaNO ₃			NaNO ₂			CO(NH ₂) ₂						
			2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10				
0	Total-N	2.34																
	Prot.-N	1.53																
	Non.-Prot.-N	0.81																
1	Total-N	2.38	2.56	2.87	2.89	2.45	2.45	2.59	2.28	2.30	2.36	2.74	2.66	2.55				
	Prot.-N	1.55	1.64	1.64	1.60	1.75	1.61	1.80	1.70	1.77	1.76	1.83	1.52	1.51				
	Non.-Prot.-N	0.83	0.92	1.23	1.29	0.70	0.84	0.79	0.58	0.53	0.60	0.91	1.14	1.04				
3	Total-N	2.33	2.72	3.05	3.00	2.50	2.59	2.65	2.32	2.31	2.36	2.40	2.59	2.45				
	Prot.-N	1.45	1.82	2.08	1.75	1.70	1.67	1.85	1.59	1.80	1.63	1.59	1.67	1.42				
	Non.-Prot.-N	0.88	0.90	0.97	1.25	0.80	0.92	0.80	0.73	0.51	0.73	0.81	0.92	1.03				
5	Total-N	2.35	2.81	2.96	2.93	2.43	2.51	2.33	2.37	2.45	2.60	2.46	2.66	2.48				
	Prot.-N	1.38	1.74	1.82	1.71	1.62	1.58	1.66	1.53	1.82	1.82	1.53	1.66	1.29				
	Non.-Prot.-N	0.97	1.07	1.14	1.22	0.81	0.93	0.67	0.84	0.63	0.78	0.93	1.00	1.19				

1) N source added

2) Concentration of added N (ppm in culture media)

3) Duration of culture (days)

きに全窒素と蛋白態窒素の増加量をもつとも大きくなるので、5ppm が蛋白質を増加させるための最適濃度と考えられるが、10ppm になると非蛋白態窒素の量が増加し、全窒素や蛋白態窒素の増加量が少なくなる。これは遊離アンモニアが葉体内に蓄積され、代謝が阻害されるためではなかろうか。

2) NaNO₃ 区

全窒素、蛋白態窒素量ともに NH₄NO₃ 区ほどの著しい量の増加はみられないが、対照区にくらべていずれも増加している。すなわち全窒素量は NH₄NO₃ 区とはほぼ同じように3日目までは添加した窒素濃度の増加とともに増えているが、5日目になると5ppm で最高の値が、10ppm で最少の値がみられた。蛋白態窒素量もほぼ全窒素量と同じような傾向で変化しているが、培養の全期間を通じて10ppm を添加したときにもつとも増加量が多くなっていた。非蛋白態窒素量は5ppm を添加したときには対照区とはほぼ同じ値が得られたが、2, 10ppm の添加ではいずれも低い値が測定されている。

このように全窒素量と蛋白態窒素量のいずれもが対照区に比べて増加しており、吸収された NO₃⁻-N が NO₂⁻-N を経て NH₄⁺-N に還元され、前記の代謝系に入つたものと考えられる。しかし NH₄NO₃ 区と異なつて全窒素の増加量より蛋白態窒素の増加量のほうが多くなっていたが、Kjeldahl 法による窒素定量法では NO₃⁻-N や NO₂⁻-N は充分に定量されないから、ここで得られた全窒素量と非蛋白態窒素量は見掛けの値と考えねばなるまい。

3) NaNO₂ 区

全窒素量の変化をみると前二区と全く異なつた傾向がみられた。すなわち 1, 3 日目では対照区に比べてやや低い値を示し、5日目になつてやや高い値を示している。蛋白態窒素量は前2区と同じように対照区に比べていずれも増加しており、全期間を通じて5ppm の添加のときに最大の増加量を示している。非蛋白態窒素量は対照区に比べていずれも低い値が得られている。

このように NaNO₂ 区では、全窒素量は対照区に比べて減少しているにもかかわらず、蛋白態窒素量の増加がかなり認められた。アサクサノリで行なつた同様な実験結果¹⁰⁾をみると NO₂⁻-N として葉体中に測定される量は全くないが、吸収されたのち直ちに還元されて全窒素量を増加させるという。テングサでももし

NO_2^-/N が吸収されて還元されたならば全窒素量の増加となつて表われるであろうが、むしろ対照区より減少していることから考えて、テングサは NO_2^-/N を吸収しないか、あるいは吸収したとしても生体内で NO_2^-/N を還元しないのではないかと考えられる。3日目までの蛋白態窒素量の増加は、非蛋白態窒素から変わったものと考えられるが、5日目にみられた全窒素量と蛋白態窒素量の増加は、培養液中の NO_2^-/N が NH_4^+/N に還元されていたので¹⁶⁾、これが吸収され蛋白態窒素に変わったのであろう。

4) 尿 素 区

全窒素量は対照区に比べていずれも増加しており、1日目の増加量が3, 5日目のそれらに比べて高い値を示している。蛋白態窒素量をみると10ppmを添加したものでは減少しているが、2, 5ppmの添加では5ppmの1日目を除いていずれも増加している。非蛋白態窒素も一部を除いては増加している。添加した尿素態窒素の濃度とおおのの成分の増加量との関係を見ると、全窒素量、蛋白態窒素量ともに1日目では2ppmで、3, 5日目では5ppmで最高の値を示し、 NH_4NO_3 区と同じように両者の変化に正の相関関係がみられた。

以上のように尿素区でみられた特長的なことは、10ppmの添加濃度において蛋白態窒素量が対照区に比べて減少していることである。これは薬害作用によるものとも考えられるが、比較的低濃度でみられたことでもあり、今後さらに実験を進めねばならない問題と考えられる。

以上おおのの窒素形態について考察を加えてみたが、一般に水中施肥で要求されることは、施肥方法は別問題として、肥料分ができるかぎり低濃度で速やかに吸収され、しかも吸収された肥料が窒素肥料の場合には、それが蛋白態窒素に変わり得ることであろうと考えられる。また、これは施肥方法とも関係のあることであるが、伊豆半島で実際に窒素肥料による薬害を生じた例がある¹⁵⁾ということであるから、低濃度でも薬害を生じない肥料を施すよう考慮せねばならない。

このような観点から以上の実験結果をみると、 NaNO_2 はテングサによつて吸収されず、尿素は比較的低濃度でも薬害が考えられたので、いちおう現段階ではテングサへの肥料としては除いておいたほうが良いように思われる。 NH_4NO_3 と NaNO_3 はその代謝機構や代謝速度に違いがあるが、前記の条件をほぼ有しているので、テングサへの肥料として考えて良いであろう。しかし両者を比較するとき、全窒素と蛋白態窒素の増加量をもつとも大きい NH_4NO_3 をテングサへの肥料として選んだほうが良いであろう。

要 約

テングサへの施肥を行なうにあたり、どのような窒素肥料をどのくらいの量を与えたら良いかを知るためテングサを4種類の異なる形態の窒素源(Nとして2, 5, 10ppm)を添加した海水中におおの培養して、そのときの全窒素、蛋白態窒素含量を定量し、非蛋白態窒素含量の変化を測定した。

1) NH_4NO_3 区では全窒素量と蛋白態窒素量の増加が他の形態の窒素源に比べてもつとも大きく、5ppmという比較的低濃度の窒素を添加したとき最大の増加量を示すことがわかつたので、この実験の範囲内ではテングサへの肥料としてもつとも適していると考えられる。しかし10ppm以上になると薬害作用がうかがわれたので、実際の施肥にあたって留意する必要がある。

2) NaNO_3 区も全窒素量と蛋白態窒素量の増加がみられたので、これもテングサへの肥料として考えて良いであろう。このときの蛋白態窒素量の増加は、10ppmの範囲内では添加濃度の増加とともに大きくなつた。

3) NaNO_2 はテングサによつて全く吸収されないか、あるいは吸収されたとしても生体的で還元されないで、テングサへの肥料としては適さないことがわかつた。しかし蛋白態窒素の増加がみられたが、これは非蛋白態窒素から変化したものと考えられる。

4) 尿素区では全窒素、蛋白態窒素含量の増加は見られたが不顕著で、10ppmという低濃度の添加でも薬害作用のあることがうかがわれたので、テングサへの肥料として除いたほうが良いであろう。しかし薬害

については今後さらに研究されねばならない問題と考えられる。

文 献

- 1) 三好 勝: 水産増殖, **5** (1), (1957).
- 2) 野沢恰治: 水産増殖, **1** (1), (1953).
- 3) 野沢恰治: 水産増殖, **7** (2), (1959).
- 4) 佐野 孝: 東北海区水研報告, No. **4**, 256 (1955).
- 5) 佐野 孝: 東北海区水研報告, No. **5**, 64 (1955).
- 6) 武居 薫, 他: 農林省水産講習所研究報告, **8** (2), (1959).
- 7) 太田扶桑男: 熊本県水試事業報告書, 昭和 25~27 年度, 80 (1959).
- 8) 上妻復興, 他: 瀬戸内海海苔研究集報 No. **2**, 151 (1959).
- 9) 佐藤孜郎, 他: 本誌, **25**, 661 (1959).
- 10) 伊藤啓二, 他: 本誌, **26**, 938 (1960).
- 11) 曾呈奎, 他: 植物学報, **4** (2), (1955).
- 12) 長谷川由雄, 他: 北水試月報, **17**, 461 (1960).
- 13) 長谷川由雄, 他: 北水試月報, **17**, 475 (1960).
- 14) 三好 勝: 水産増殖, **6** (1), (1958).
- 15) 静岡県田方郡小下田組合長 山本徳平氏談.
- 16) 山田信矢: 未発表.